

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-262856

(43)Date of publication of application : 17.09.2002

(51)Int.Cl.

C12M 3/00

C12N 5/10

(21)Application number : 2001-062954

(71)Applicant : JAPAN TISSUE ENGINEERING:KK

(22)Date of filing : 07.03.2001

(72)Inventor : MORI YUKIO  
HOTTA HITOSHI  
ISHIKAWA YOICHI

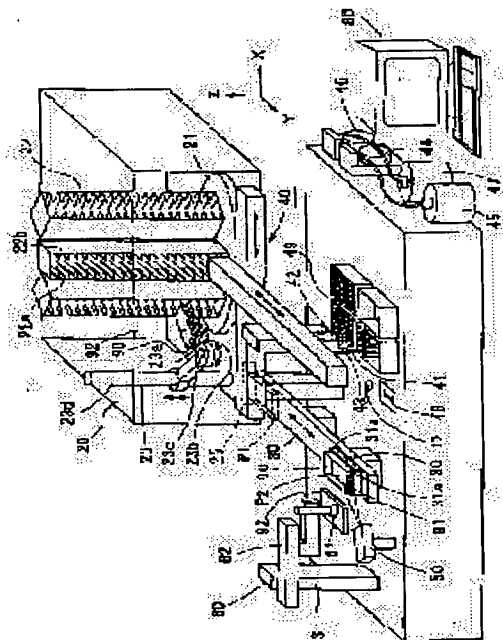
BEST AVAILABLE COPY

## (54) METHOD FOR AUTOMATICALLY EXCHANGING CULTURE MEDIUM, ITS PROGRAM, AND APPARATUS FOR AUTOMATICALLY EXCHANGING CULTURE MEDIUM

## (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a method for automatically exchanging a culture medium, and to provide an apparatus for the same, capable of automatically exchanging the culture medium in culture operations of adhesion-dependent cells.

**SOLUTION:** This apparatus 10 for automatically exchanging the culture medium is mainly composed of an incubator 20 equipped with stackers 22, a carrier robot 23 or the like, a culture medium-exchanging robot 40 equipped with a culture medium-injecting needle 41 and a culture medium-discharging needle 42, and a control computer 80 for controlling the above members. The control computer 80 operates to take out a culture tray 90 for culturing the cells from the incubator 20 to the outside with the carrier robot 23, etc., to discharge the liquid culture medium from the culture tray 90 with the needle 42, to inject the new liquid culture medium into the tray with the needle 41, and to warehouse the culture tray 90 in the incubator 20. Therefore, workloads on an operator are decreased, other loads such as time and cost required for educating and training the operator are reduced because he can easily conduct the culture medium-exchange operation even though he is not enough skilled in the operation, and further such a possibility that a mistake, contamination or the like is caused by the human factor is few.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision  
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2002-262856  
(P2002-262856A)

(43) 公開日 平成14年9月17日 (2002.9.17)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード* (参考)
C 1 2 M 3/00		C 1 2 M 3/00	A 4 B 0 2 9
C 1 2 N 5/10		C 1 2 N 5/00	B 4 B 0 6 5

審査請求 未請求 請求項の数23 O L (全 22 頁)

(21) 出願番号	特願2001-62954 (P2001-62954)	(71) 出願人	399051858 株式会社 ジャパン・ティッシュ・エンジ ニアリング 愛知県蒲郡市三谷北通 6 丁目209番地の 1
(22) 出願日	平成13年 3 月 7 日 (2001.3.7)	(72) 発明者	森 由紀夫 愛知県蒲郡市三谷北通 6 丁目209番地の 1 株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジ ニアリング内
		(74) 代理人	110000017 特許業務法人アイテック国際特許事務所

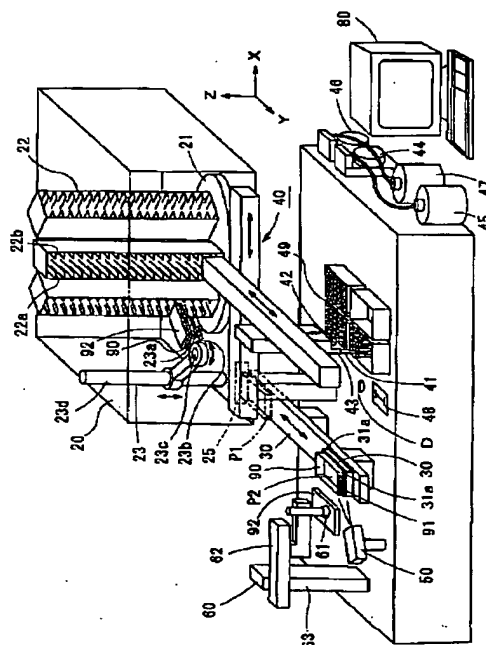
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 自動培地交換方法、プログラム及び自動培地交換装置

(57) 【要約】

【課題】 接着依存性細胞の培養作業において自動的に培地交換できる。

【解決手段】 自動培地交換装置 10 は、主に、スタッカー 22 や搬送ロボット 23 等を備えたインキュベータ 20 と、培地注入ニードル 41 や培地排出ニードル 42 を備えた培地交換ロボット 40 と、これらを制御する管理コンピュータ 80 とから構成されている。管理コンピュータ 80 は、細胞を培養する培養トレイ 90 をインキュベータ 20 の中から搬送ロボット 23 等により外部へ取り出し、その培養トレイ 90 内の液体培地をニードル 41 で排出して新たな液体培地をニードル 42 で注入し、その培養トレイ 90 をインキュベータ 20 に入庫する。このため、作業者の負担が軽くなり、培地交換作業に熟練していない者であっても操作できるため作業者の教育・育成等に必要だった時間やコストなどの負担がかからず、人為的ミスやコンタミネーション等の可能性がほとんどない。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ロボットをコンピュータ制御することにより培養容器内の流動性培地を自動的に交換する方法であって、

接着依存性細胞を培養する培養容器を収納可能なインキュベータの中から所定の培養容器を外部へ取り出し、取り出した培養容器内の流動性培地を排出して新たな流動性培地を注入し、その後その培養容器をインキュベータに収納することを特徴とする自動培地交換方法。

【請求項2】 複数の培養容器を収納可能なインキュベータの中から所定の蓋付きの培養容器を外部へ取り出し、取り出した培養容器の蓋を取り外し、その培養容器内の流動性培地を排出して新たな流動性培地を注入し、その後その培養容器に蓋をしてインキュベータに収納することを特徴とする請求項1記載の自動培地交換方法。

【請求項3】 前記取り出した培養容器内の流動性培地を排出する際、その培養容器を傾斜させながら流動性培地を排出する請求項1又は2記載の自動培地交換方法。

【請求項4】 前記取り出した培養容器内の流動性培地を排出する際、その培養容器内の流動性培地の量に応じて傾斜させながら流動性培地を排出する請求項3記載の自動培地交換方法。

【請求項5】 前記取り出した培養容器を傾斜させながら流動性培地を排出した後、その培養容器を水平に戻して新たな流動性培地を注入する請求項3又は4記載の自動培地交換方法。

【請求項6】 所定の交換時期になると、前記取り出した培養容器内の流動性培地を排出するための培地排出具のうち流動性培地と接触する先端チップ又は前記取り出した培養容器へ流動性培地を注入するための培地注入具のうち取り替え可能な先端チップを、未使用の先端チップと交換する請求項1～5のいずれかに記載の自動培地交換方法。

【請求項7】 前記取り出した培養容器内へ新たな流動性培地を注入する際、その培養容器のうち予め定められた2以上の注入地点にて流動性培地を注入する請求項1～6のいずれかに記載の自動培地交換方法。

【請求項8】 前記取り出した培養容器内へ新たな流動性培地を注入する際、その培養容器のうち予め定められた2以上の注入地点にて予め定められた注入量の流動性培地を注入する請求項7記載の自動培地交換方法。

【請求項9】 前記取り出した培養容器内へ新たな流動性培地を注入する際、予め定められた種類の培地をその培養容器に注入する請求項1～8のいずれかに記載の自動培地交換方法。

【請求項10】 前記取り出した培養容器内へ新たな流動性培地を注入する際、その培養容器に付された識別記号を読みとることにより得られた培地注入に関する情報に基づいて、前記培養容器内に流動性培地を注入する請求項1～9のいずれかに記載の自動培地交換方法。

【請求項11】 前記培養容器は皮膚シートを培養可能なトレイである請求項1～10のいずれかに記載の自動培地交換方法。

【請求項12】 コンピュータに、請求項1～11のいずれかに記載された自動培地交換方法を実行させるためのプログラム。

【請求項13】 接着依存性細胞を培養する培養容器を収納可能なインキュベータと、前記インキュベータの中へ培養容器を収納したり前記インキュベータの中から培養容器を外へ取り出したりする容器出入手段と、

前記インキュベータの中から外へ取り出された前記培養容器につき、その培養容器内の流動性培地を排出する培地排出手段と、

前記インキュベータの中から外へ取り出された前記培養容器につき、その培養容器内へ流動性培地を注入する培地注入手段と、

前記容器出入手段に所定の培養容器を前記インキュベータの中から外へ取り出させ、前記培地排出手段にその培養容器内の流動性培地を排出させ、その後前記培地注入手段にその培養容器内へ流動性培地を注入させ、その後前記容器出入手段にその培養容器を前記インキュベータの中へ収納させる制御手段とを備えたことを特徴とする自動培地交換装置。

【請求項14】 前記培養容器の蓋を着脱させる蓋着脱手段を備え、

前記制御手段は、前記容器出入手段によって取り出された所定の蓋付き培養容器につき、前記蓋着脱手段にその培養容器の蓋を取り外させ、前記培地排出手段にその培養容器内の流動性培地を排出させ、その後前記培地注入手段にその培養容器内へ流動性培地を注入させ、前記蓋着脱手段にその培養容器へ蓋を装着させ、その後前記容器出入手段にその培養容器を前記インキュベータの中へ収納させることを特徴とする請求項13記載の自動培地交換装置。

【請求項15】 前記容器出入手段によって取り出された培養容器を傾斜させて支持可能な容器支持手段を備え、

前記制御手段は、前記培地排出手段にその培養容器内の流動性培地を排出させる際、前記容器支持手段を駆動して前記培養容器を傾斜させることを特徴とする請求項13又は14記載の自動培地交換装置。

【請求項16】 前記容器出入手段によって取り出された培養容器内の流動性培地の量を検出する培地量検出手段を備え、

前記制御手段は、前記容器支持手段を駆動して前記培養容器を傾斜させる際、前記培地量検出手段によって検出された培地量に応じた傾斜角度に傾斜させることを特徴とする請求項15記載の自動培地交換装置。

【請求項17】 前記制御手段は、前記容器支持手段を

駆動して前記培養容器を傾斜させながら前記培地排出手段に流動性培地を排出させた後、前記容器支持手段を駆動して前記培養容器を水平に戻し、その後前記培地注入手段にその培養容器内へ流動性培地を注入させることを特徴とする請求項 15 又は 16 記載の自動培地交換装置。

【請求項 18】 前記培地排出手段又は前記培地注入手段に取り付けられた先端チップと、使用中の先端チップを未使用の先端チップに交換するチップ交換手段と、前記先端チップを交換する時期を設定するチップ交換時期設定手段とを備え、前記制御手段は、前記チップ交換時期設定手段によって設定された交換時期になると、前記チップ交換手段を駆動して使用中の先端チップを未使用の先端チップに交換させることを特徴とする請求項 13～17 のいずれかに記載の自動培地交換装置。

【請求項 19】 前記培養容器のうち 2 以上の注入地点を設定する注入地点設定手段を備え、前記制御手段は、前記培地注入手段に前記培養容器内へ新たな流動性培地を注入させる際、前記注入地点設定手段によって設定された 2 以上の注入地点にて流動性培地を注入させることを特徴とする請求項 13～18 のいずれかに記載の自動培地交換装置。

【請求項 20】 前記注入地点設定手段は、前記培養容器のうち 2 以上の注入地点を設定すると共にその設定した各注入地点での注入量を設定し、前記制御手段は、前記培地注入手段に前記培養容器内へ新たな流動性培地を注入させる際、前記注入地点設定手段によって設定された 2 以上の注入地点にて前記注入地点設定手段によって設定された注入量の流動性培地を注入させることを特徴とする請求項 19 記載の自動培地交換装置。

【請求項 21】 前記培養容器に注入する流動性培地を複数種の中から設定する培地設定手段を備え、前記培地注入手段は複数種の培地を選択的に注入可能であり、前記制御手段は、前記培地設定手段によって設定された種類の培地を、前記培地注入手段に前記培養容器内へ注入させることを特徴とする請求項 19 又は 20 記載の自動培地交換装置。

【請求項 22】 前記培養容器ごとに付され、培地の種類、培地の注入量及び培地の注入地点の少なくとも 1 つの情報に対応づけられた識別記号と、前記識別記号を認識する識別記号認識手段とを備え、前記制御手段は、前記識別記号認識手段によって認識された識別記号に対応する情報に応じて、前記培地注入手段に前記培養容器内へ流動性培地を注入させることを特徴とする請求項 13～21 のいずれかに記載の自動培地交換装置。

【請求項 23】 前記培養容器は皮膚シートを培養可能なトレイである請求項 13～22 のいずれかに記載の自動培地交換装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はインビトロ（生体外）での細胞培養における培地交換を自動的に行う自動培地交換装置、自動培地交換方法及びその方法をコンピュータに実行させるためのプログラムに関する。

【0002】

【従来の技術】インビトロ（生体外）において細胞を培養し、組織を再構築することにより培養組織等価物を形成する組織工学や、この培養組織等価物を治療に利用する再生医療が注目を集めている。インビトロにおける細胞培養、組織培養は、栄養分が添加された液体培地に細胞、又は細胞と共に細胞増殖の足場となる担体（scaffold）を浸漬させ、所定の培養条件の下、培養器であるインキュベータ内で培養が行われる。この際、定期的に培地の交換を行う必要があり、使用済培地の排出、新しい培地の注入等を作業者がマニュアル作業（手作業）で行っていた。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、培地交換の作業はマニュアル作業で行われると共に、頻繁に行う必要があるため、作業者の負担となっていた。特に大量培養を行う場合などは顕著であり、培地交換だけで相当量の時間と負担が強いられていた。

【0004】また、培地交換作業には熟練した技術が必要であるため、作業者の教育・育成等に時間やコストなど、多くの負担がかかる。更に、作業者によるマニュアル作業では人為的ミスやコンタミネーション（汚染）等の可能性があり、十分な管理体制の確立が不可欠であった。

【0005】従来、浮遊性細胞や植物細胞等においては、自動で培地交換を行うシステムが案出されてはいたが、組織工学で利用される哺乳類の上皮細胞、線維芽細胞、軟骨細胞、骨芽細胞等に代表される接着依存性細胞においては、自動化された培地交換システム、特に大量培養に適した培地交換システムは知られていない。

【0006】本発明は上記従来技術の問題点を鑑み、接着依存性細胞の培養作業において自動的に培地交換が可能な自動培地交換方法や自動培地交換装置を提供することを目的とする。また、そのような方法をコンピュータに実行させるためのプログラムを提供することを別の目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段及び発明の効果】上記課題を解決するため、本発明の自動培地交換方法は、ロボットをコンピュータ制御することにより培養容器内の流動性培地を自動的に交換する方法であって、接着依存性細胞

胞を培養する培養容器を収納可能なインキュベータの中から所定の培養容器を外へ取り出し、取り出した培養容器内の流動性培地を排出して新たな流動性培地を注入し、その後その培養容器をインキュベータに収納することと特徴とする。この方法によれば、作業者の負担が軽くなり、培地交換作業に熟練していない者であっても操作できるため作業者の教育・育成等に必要だった時間やコストなどの負担がかからず、人為的ミスやコンタミネーション等の可能性がほとんどないという効果が得られる。なお、この方法は特に大量培養を行う場合に適している。

【0008】この方法を装置に適用した一例としては、接着依存性細胞を培養する培養容器を収納可能なインキュベータと、このインキュベータの中へ培養容器を収納したりインキュベータの中から培養容器を外へ取り出したりする容器出入手段と、インキュベータの中から外へ取り出された培養容器につき、その培養容器内の流動性培地を排出する培地排出手段と、インキュベータの中から外へ取り出された培養容器につき、その培養容器内へ流動性培地を注入する培地注入手段と、容器出入手段に所定の培養容器をインキュベータの中から外へ取り出させ、培地排出手段にその培養容器内の流動性培地を排出させ、その後培地注入手段にその培養容器内へ流動性培地を注入させ、その後容器出入手段にその培養容器をインキュベータの中へ収納させる制御手段とを備えた自動培地交換装置が挙げられる。

【0009】この自動培地交換装置では、接着依存性細胞を培養する培養容器内の流動性培地（例えば液体培地）を自動交換する際、制御手段が容器出入手段に所定の培養容器（例えば培地交換の必要があると作業者又はコンピュータによって判断された培養容器）をインキュベータの中から外へ取り出させ、培地排出手段にその培養容器内の流動性培地を排出させ、培地注入手段にその培養容器内へ流動性培地を注入させ、容器出入手段にその培養容器をインキュベータの中へ収納させる。なお、培地排出手段としては、培養容器内の流動性培地を排出する手段であれば特に限定されないが、吸引作用により流動性培地を排出するものが好ましい。この装置によれば、上述した自動培地交換方法によって得られる効果と同様の効果が得られる。

【0010】本発明の自動培地交換方法において、複数の培養容器を収納可能なインキュベータの中から所定の蓋付きの培養容器を外へ取り出し、取り出した培養容器の蓋を取り外し、その培養容器内の流動性培地を排出して新たな流動性培地を注入し、その後その培養容器に蓋をしてインキュベータに収納してもよい。この場合、コンタミネーションをより確実に防止できる。この方法を装置に適用した一例としては、先の自動培地交換装置において、培養容器の蓋を着脱させる蓋着脱手段を備え、制御手段は、容器出入手段によって取り出された所

定の蓋付き培養容器につき、前記蓋着脱手段にその培養容器の蓋を取り外させ、前記培地排出手段にその培養容器内の流動性培地を排出させ、その後培地注入手段にその培養容器内へ流動性培地を注入させ、蓋着脱手段にその培養容器へ蓋を装着させ、その後容器出入手段にその培養容器をインキュベータの中へ収納させるように構成したものが挙げられる。

【0011】本発明の自動培地交換方法において、取り出した培養容器内の流動性培地を排出する際、その培養容器を傾斜させながら流動性培地を排出してもよい。この場合、培養容器内の流動性培地は培養容器が傾斜することにより一方向に溜められるので、流動性培地を排出しやすくなる。この方法を装置に適用した一例としては、先の自動培地交換装置において、容器出入手段によって取り出された培養容器を傾斜させて支持可能な容器支持手段を備え、制御手段は、培地排出手段にその培養容器内の流動性培地を排出させる際、容器支持手段を駆動して培養容器を傾斜させるように構成したものが挙げられる。

【0012】このとき、取り出した培養容器内の流動性培地を排出する際、その培養容器内の流動性培地の量に応じて傾斜させながら流動性培地を排出してもよい。この場合、培地量が多ければ小さな傾斜角度とし、培地量が少なければ大きな傾斜角度とすることが可能であり、それによって一段と流動性培地を排出しやすくなる。この方法を装置に適用した一例としては、先の自動培地交換装置において、更に、容器出入手段によって取り出された培養容器内の流動性培地の量を検出する培地量検出手段を備え、制御手段は、容器支持手段を駆動して培養容器を傾斜させる際、培地量検出手段によって検出された培地量に応じた傾斜角度に傾斜させるように構成したものが挙げられる。なお、培地量検出手段としては、例えば培養容器内に残っている流動性培地の重量又は容量を直接又は間接的に検出する手段を用いてもよく、間接的に検出する場合としては、例えば培養容器内の流動性培地の全量から培地排出手段によって排出した培地排出量を差し引いて残存する培地量を求めてもよい。

【0013】このように培養容器を傾斜させながら流動性培地を排出した後、その培養容器を新たな流動性培地を注入する際、培養容器を傾斜した状態から水平に戻しながら新たな流動性培地を注入してもよいが、培養容器を水平に戻してから新たな流動性培地を注入してもよい。後者の場合、制御が簡易になる。この方法を装置に適用した一例としては、先の自動培地交換装置において、培養容器を傾斜させながら流動性培地を排出した後、制御手段は容器支持手段を駆動して培養容器を水平に戻し、その後培地注入手段にその培養容器内へ流動性培地を注入させる構成が挙げられる。

【0014】本発明の自動培地交換方法において、所定の交換時期になると、取り出した培養容器内の流動性培

地を排出するための培地排出具のうち流動性培地と接触する先端チップ又は取り出した培養容器へ流動性培地を注入するための培地注入具のうち取り替え可能な先端チップを、未使用の先端チップと交換してもよい。この場合、先端チップを介してコンタミネーションが生じるおそれがあれば、先端チップを交換するように設定することにより、そのおそれを回避できる。この方法を装置に適用した一例としては、先の自動培地交換装置において、培地排出手段及び培地注入手段に取り付けられた先端チップと、使用中の先端チップを未使用の先端チップに交換するチップ交換手段と、先端チップを交換する時期を設定するチップ交換時期設定手段とを備え、制御手段は、チップ交換時期設定手段によって設定された交換時期になると、チップ交換手段を駆動して使用中の先端チップを未使用の先端チップに交換させる構成が挙げられる。特に培地排出具の先端チップは培養容器内の流動性培地に直接接触することから、コンタミネーションの原因になり易いので、適時（例えば培養容器ごとに）交換するのが好ましい。

【0015】本発明の自動培地交換方法において、インキュベータの中から取り出した培養容器内へ新たな流動性培地を注入する際、その培養容器のうち予め定められた2以上の注入地点にて流動性培地を注入してもよい。流動性培地を1つの注入地点に注入してもよいが、接着依存性細胞の形態が流動性培地の圧力を受け続けることによって変形するおそれがある場合には、ここで述べたように流動性培地を2つ以上の注入地点に注入して、流動性培地の圧力を分散し、そのようなおそれを回避することが好ましい。この方法を装置に適用した一例としては、先の自動培地交換装置において、培養容器のうち2以上の注入地点を設定する注入地点設定手段を備え、制御手段は、培地注入手段に培養容器内へ新たな流動性培地を注入させる際、注入地点設定手段によって設定された2以上の注入地点にて流動性培地を注入させる構成が挙げられる。

【0016】このとき、インキュベータの中から取り出した培養容器内へ新たな流動性培地を注入する際、その培養容器のうち予め定められた2以上の注入地点にて予め定められた注入量の流動性培地を注入してもよい。この場合、各注入地点ごとに異なる注入量に設定できるため、きめの細かい注入パターンを選ぶことができる。この方法を装置に適用した一例としては、先の自動培地交換装置において、注入地点設定手段は、培養容器のうち2以上の注入地点を設定すると共にその設定した各注入地点での注入量を設定し、制御手段は、培地注入手段に前記培養容器内へ新たな流動性培地を注入させる際、前記注入地点設定手段によって設定された2以上の注入地点にて前記注入地点設定手段によって設定された注入量の流動性培地を注入させる構成が挙げられる。

【0017】本発明の自動培地交換方法において、イン

キュベータの中から取り出した培養容器内へ新たな流動性培地を注入する際、予め定められた種類の培地をその培養容器に注入してもよい。この場合、培養状態に応じた適切な流動性培地を選択して注入したり、培地の種類の異なる複数の培養組織を同一の自動培地交換装置を使って培養したりすることができる。この方法を装置に適用した一例としては、先の自動培地交換装置において、培養容器に注入する流動性培地を複数種の中から設定する培地設定手段を備え、培地注入手段は複数種の培地を選択的に注入可能であり、制御手段は、培地設定手段によって設定された種類の培地を、培地注入手段に培養容器内へ注入させる構成が挙げられる。

【0018】本発明の自動培地交換方法において、インキュベータの中から取り出した培養容器内へ新たな流動性培地を注入する際、その培養容器に付された識別記号を読みとることにより得られる培地注入に関する情報に基づいて、前記培養容器内に流動性培地を注入してもよい。この場合、誤った培地注入が行われるおそれが有効に回避される。

【0019】この方法を装置に適用した一例としては、先の自動培地交換装置において、培養容器ごとに付された識別記号（培地の種類、培地の注入量及び培地の注入地点の少なくとも1つの情報に対応づけられた記号）と、この識別記号を認識する識別記号認識手段とを備え、制御手段は、識別記号認識手段によって認識された識別記号に対応する情報に応じて、培地注入手段に培養容器内へ流動性培地を注入させる構成が挙げられる。

【0020】本発明の自動培地交換方法における培養容器としては、特に接着依存性細胞を培養可能な容器であれば限定されないが、特に皮膚シートを培養可能なトレイ（又はシャーレ状容器）であることが好ましい。この場合、培養皮膚シートを大量生産することができる。

【0021】本発明の自動培地交換方法をコンピュータに実行させるためのプログラムについても、上述した自動培地交換方法によって得られる効果と同様の効果が得られる。また、このようなプログラムの取引形態としては、フレキシブル・ディスクやCD-ROM等のコンピュータ読み取り可能な記録媒体に記録された状態のみならず、媒体に記録しない状態でのネットワーク上での取引などが挙げられる。

【0022】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施形態について図面に基づいて説明する。図1は本実施形態の自動培地交換装置の外観概略図、図2は本実施形態の搬送コンベアの概略説明図、図3は本実施形態のニードル保持部の概略説明図、図4は本実施形態の電気的接続を表す概略ブロック図である。

【0023】本実施形態の自動培地交換装置10は、インキュベータ20、搬送コンベア30、培地交換ロボット40、バーコードリーダ50、リッドオープンロボッ

ト60、管理コンピュータ80などにより構成されている。

【0024】インキュベータ20は、炭酸ガス培養器であり、モータ駆動されるターンテーブル21と、このターンテーブル21上に円周方向に沿って複数並べられたスタッカー22と、このスタッカー22に対してアプローチ可能なアーム部23aを有する搬送ロボット23と、内外に通じる開閉可能な開口部24と、搬送ロボット23、ターンテーブル21及び開口部24を駆動制御するコントローラ25（図4参照）とを備えている。なお、この種のインキュベータ20は既に市販されており、例えば日本ケンドロ社製のサイトマツ6000（Cytomat 6000）などを用いることができる。

【0025】インキュベータ20のうち、スタッカー22は、多段にわたって左右一対のトレイ保持レール22a、22bが設けられ、各左右一対のトレイ保持レール22a、22bに対して培養トレイ90（培養容器）をターンテーブル21の回転中心に向かって差し込んで収納するように構成されている。換言すれば、スタッカー22は、培養トレイ90を収納可能な収納空間（入庫場所ともいう）を多段にわたって備えている。

【0026】また、搬送ロボット23は、培養トレイ90を保持可能なアーム部23aを水平軸23bに沿って移動可能であり、この水平軸23bをアーム部23aと共に回転軸23cまわりに回転可能であり、この回転軸23cを上下軸23dに沿って移動可能なロボットである。この搬送ロボット23は、アーム部23aに保持された培養トレイ90を、スタッカー22の任意の収納空間と開口部24の外側にあたるトレイ出入位置P1との間で移動可能である。

【0027】更に、コントローラ25は、管理コンピュータ80に電氣的に接続され、管理コンピュータ80からの制御信号を受けてターンテーブル21の回転、搬送ロボット23の動作、開口部24の開閉を制御するものである。例えば、ターンテーブル21についていえば、管理コンピュータ80からの制御信号を受けて、図示しないモータを駆動してターンテーブル21が所定位置になるようにフィードバック制御する。

【0028】搬送コンベア30は、培養トレイ90を保持可能なキャリア31と、このキャリア31をトレイ出入位置P1と培地交換位置P2との間で水平移動させる水平移動機構32と、キャリア31が水平姿勢又は傾斜姿勢になるように揺動させる揺動機構33とを備えている。

【0029】このうちキャリア31は、培養トレイ90の四隅に対応する位置に保持部31aを備えたものである。このキャリア31に略四角形状の培養トレイ90を載せると、その培養トレイ90の四隅が保持部31aにはまり込み、その結果培養トレイ90はキャリア31に

保持される。

【0030】また、水平移動機構32は、ベルト駆動モータ32eによって駆動される駆動輪32aとモータ駆動されない従動輪32bとの間にループ状に架け渡されたコンベアベルト32cと、このコンベアベルト32cに固定されたベース32dとから構成されている。

【0031】更に、揺動機構33は、ベース32dの上面にてキャリア31を支持するものであり、キャリア31の下面に設けられた扇形ラック33aと、ベース32dに設けられたピニオン33bと、このピニオン33bを駆動軸に有する傾動モータ33cとから構成されている。扇形ラック33aは、扇中心付近に設けられた揺動軸まわりに揺動可能であってピニオン33bに啮合されている。このため、傾動モータ33cが回転すると、ピニオン33bを介して扇形ラック33aが揺動軸まわりに揺動し、それに応じて培養トレイ90を保持しているキャリア31が水平又は傾斜姿勢で支持される。

【0032】なお、水平移動機構32は、キャリア31を水平移動可能な機構であればコンベアベルトに限らず、その他の機構であってもよく、また、揺動機構33もラックピニオンに限らず、その他の機構であってもよい。

【0033】培地交換ロボット40は、培地注入ニードル41と培地排出ニードル42とを備えたニードル保持部43をX軸方向（左右方向）、Y軸方向（前後方向）に移動可能であると共に、ニードル保持部43における各ニードル41、42を個別にZ軸方向（上下方向）に移動可能な3軸ロボットである。培地注入ニードル41は、注入ポンプ44を介して培地ボトル45に接続され、培地排出ニードル42は、排出ポンプ46を介して廃液ボトル47に接続されている。各ニードル41、42の先端には滅菌チップである培地注入チップ41a及び培地排出チップ42aが着脱可能に取り付けられている。この滅菌チップを外す場合には、培地交換ロボット40によりニードル保持部43をチップ除去部48の上方に位置決めし、ニードル41、42のうちチップ除去を要するものをチップ除去部48にて除去する。例えば、図3（b）に示すように、培地注入ニードル41を下降させたあと横方向へスライドさせてチップ除去部48の切欠48aの真下に培地注入チップ41aを位置決めしたあと上昇させることにより、培地注入チップ41aの上端がチップ除去部48に引っかかってニードル41から外れるようにする。また、滅菌チップを装着する場合には、培地交換ロボット40によりニードル保持部43を所定のチップラック49の上方に位置決めし、ニードル41、42のうちチップ装着を要するものを下降させてチップラック49内の所定の滅菌チップに圧入し、その後上昇させる。

【0034】バーコードリーダ50は、培地交換位置P2に位置決めされた培養トレイ90の前側面に添付され

たバーコードラベル91を読み取るものであり、管理コンピュータ80と電気的に接続され、読み取ったバーコードデータを管理コンピュータ80へ送る。このバーコードリーダ50は、管理コンピュータ80からの指令によりバーコードラベル91の読み取りを行うが、培養トレイ90が培地交換位置P2に位置決めされたことを検出したときにバーコードラベル91の読み取りを行うようにしてもよい。

【0035】リッドオープンロボット60は、培地交換位置P2に位置決めされた培養トレイ90に対してリッド(蓋)92を着脱するものであり、円錐形の吸着ヘッド61を水平軸62に沿ってX軸方向に移動可能であり、この水平軸62を吸着ヘッド61と共に上下軸63に沿ってZ軸方向に移動可能なロボットである。吸着ヘッド61は、図示しない真空ポンプに接続され、管理コンピュータ80によって真空ポンプとの接続及び接続解除が制御され、接続時には吸着ヘッド61の内部が減圧化してリッド92を吸着し、接続解除時には吸着ヘッド61が常圧に戻りリッド92から離れる。

【0036】管理コンピュータ80は、周知のCPU、ROM、RAM、クロック、記憶装置(HDD等)、入出力ポート等を備えたものであり、インキュベータ20のコントローラ25、搬送コンベア30のベルト駆動モータ32e及び傾動モータ33c、培地交換ロボット40、バーコードリーダ50、リッドオープンロボット60に対して制御信号を出力し、これらから検出信号や確認信号等を入力するよう電気的に接続されている。また、管理コンピュータ80は、注入ポンプ44及び排出ポンプ46に対して制御信号を出力してポンプの駆動を制御するよう電気的に接続されている。なお、培地注入ニードル41と培地ボトル45、培地排出ニードル42と廃液ボトル47の接続には滅菌チューブを使用し、定期的に交換するのが好ましく、注入ポンプ44及び排出ポンプ46には、滅菌チューブ交換の利便性から蠕動型(ペリスタルティックタイプ)ポンプを利用することが好ましい。更に、管理コンピュータ80は、図示しないプリンタを介して印字出力可能である。

【0037】次に、本実施形態の自動培地交換装置10の使用例について説明する。なお、この装置10の使用にあたっての作業手順は、図5に示すように、基本的には入庫前処理、イニシャル処理、入庫登録処理、入庫処理、培地交換処理、製品出庫処理の順であるが、入庫処理後に一時出庫処理や培地交換スケジュール変更処理を加えてもよい。以下、これらの各手順につき、詳細に説明する。

【0038】<入庫前処理>作業者は、マニュアル作業によって以下の入庫前処理を行い、インキュベータ20内に収納する培養トレイ90を以下の手順により作製する。即ち、培養対象となる接着依存性細胞を含有する組織を被採取体から採取し、酵素処理により所定細胞を単

離する。次いで、単離した所定細胞(単離細胞)を含有した細胞懸濁液を作成するか、あるいは単離細胞をそのままの状態で培養トレイ90に播種する。このとき、細胞懸濁液のみ又は単離細胞のみを播種してもよいが、細胞増殖の足場となる担体(scaffold)に播種や包埋したり、フィーダー細胞を予め培養トレイ90の底面に敷設した後、細胞懸濁液や単離細胞を所定量播種したりしてもよい。細胞播種後、液体培地(以下単に培地という)を所定量注入し、培養トレイ90の上方にリッド92を被せる。なお、このように作製した培養トレイ90内の細胞等を試料と称する。

【0039】<イニシャル処理等>作業者は、自動培地交換装置10のシステムを起動させる。即ち、管理コンピュータ80のスイッチを入れ、所定のイニシャル処理を実行する。このイニシャル処理は、管理コンピュータ80によって制御される各機器を正常に稼働させるための一般的な処理であるため、詳細な説明は省略する。

【0040】イニシャル処理終了後、作業者は、図6に示す試料管理画面81をディスプレイに表示する指令を管理コンピュータ80の入力装置(キーボード又はマウス等)を介して入力する。すると、管理コンピュータ80は、ディスプレイに試料管理画面81を表示する。この試料管理画面81は、スタッカー情報表示部81aと、ステータス表示部81bと、入庫登録ボタン81cと、入庫ボタン81dと、出庫ボタン81eと、試料データ表示部81fとから構成されている。スタッカー情報表示部81aは、横軸にスタッカー番号(ここでは9つのスタッカーが設けられているため01番~09番)、縦軸に何段目の収納空間かを表す段番号(ここでは一つのスタッカーにつき21段)をとった二次元マトリクスとして表示されており、この二次元マトリクスの各セルは入庫場所を表す。また、各セルは収納状態が色分けして表示されている。例えば、空の入庫場所は白色、入庫登録処理が終了して培養トレイの入庫を待っている入庫待ちの入庫場所は紫色、培養トレイが入庫されている入庫場所は青色、一時的に培養トレイが出庫されている入庫場所は赤色、入庫状態であって出庫予定日に達した入庫場所は緑色、といった具合である。このとき、何色がどの収納状態に対応するかにつき、作業者が記憶していてもよいが、図6に示すようにステータス表示部81bに画面表示しておけば作業者の記憶の負担が軽減される。なお、色分けの代わりに、模様で分けてもよい。

【0041】試料データ表示部81fは、作業者が試料管理画面81において任意のセルを選択したとき、管理コンピュータ80はその選択されたセルに対応する試料に関するデータ(試料コード、試料名、入庫日、出庫予定日、培地交換実行回数、次回培地交換予定日等)を記憶装置から読み出して表示するための欄であり、これらのデータは後述する入庫登録処理によって入力され、デ

ータの一部は後述の培地交換処理等が行われることに自動的に更新される。作業者は、この試料データ表示部 81f を見れば、どの入庫場所にどのような試料が対応づけられているかを容易に認識できる。また、管理コンピュータ 80 は、試料データ表示部 81f に詳細ボタンが設けられている場合には、作業者がその詳細ボタンを選択したか否かを判断し、詳細ボタンを選択したならば、そのセルに対応する培養トレイの試料につき、更なる詳細な情報を記憶装置から読み出し、ディスプレイに表示する。このため、その試料の詳細な情報を容易に認識で

【0042】<入庫登録処理>管理コンピュータ 80 は、試料管理画面 81 で、作業者が入庫登録ボタン 81c を選択したならば、図 7 に示す入庫登録処理を開始して、ディスプレイに図 8 に示す入庫登録ウインドウ 82 を表示する (S100)。この入庫登録ウインドウ 82 は、今回の培養トレイで培養する試料を特定するための識別記号である試料コード及びその試料に関するデータ (試料名、入庫日、出庫予定日、入庫場所など) を入力する試料データ入力欄 82a と、培地交換データ (培地交換間隔など) を入力する培地交換データ入力欄 82b と、培地注入チップ 41a や培地排出チップ 42a の交換の有無等を入力する培地注入チップ交換設定欄 82c と、試料コードに対応したバーコードラベルを発行するか否かを選択するためのバーコード発行選択欄 82d と、どのように培地注入するかを設定するときに選択される分注パターン作成ボタン 82e と、今回の試料の入庫場所を設定したり確認したりするときに選択される入庫場所設定・確認ボタン 82f と、各欄で入力や設定や選択を行った内容に基づき入庫登録処理を実行させるための入庫登録処理ボタン 82g とから構成されている。

【0043】管理コンピュータ 80 は、作業者からの入力に従って各入力欄、各設定欄の入力情報を画面表示する (S110)。作業者は、入庫登録ウインドウ 82 の各欄につき以下のようにして入力を行う。即ち、作業者は入庫場所を入力する際、試料管理画面 81 におけるスタッカー情報表示部 81a のセルが入庫場所を表すことから、入庫したい場所のセルを選択した後に入庫登録ウインドウ 82 を表示させることで選択したセルを入庫場所として入力するか、あるいは、入庫登録ウインドウ 82 を表示させた後、入庫場所設定・確認ボタン 82f を選択し、スタッカー情報表示部 81a において、入庫したい場所のセルを選択することによって、入力する。または、入庫登録ウインドウ 82 の試料データ入力欄 82a に入庫場所の入力欄を設け、入庫場所を表すスタッカー番号及び段番号を手入力してもよい。

【0044】また、作業者は培地交換データを入力する際、培地交換データ入力欄 82b は、初回設定欄、2 回目設定欄、3 回目設定欄から構成されているため、各回ごとに異なる培地交換間隔を設定する。例えば、初回設

定欄では培地交換間隔 3 日で繰り返し回数 2 回、2 回目設定欄では培地交換間隔 2 日で繰り返し回数 2 回、3 回目設定欄では培地交換間隔 1 日と設定することによって、図 9 に示すような培地交換間隔を設定することができ (図中の黒塗り菱形が培地交換時期を示す)、3 回目設定欄で設定した培地交換間隔で出庫予定日 (試料データ入力欄 82a で入力) まで培地交換が繰り返される。なお、ここでは、3 通りの培地交換間隔を設定できるようにしたが、これ以上又はこれ以下の回数で設定できるようにしてもよい。また、培地交換間隔を日単位ではなく、時間単位で設定するようにしてもよい。

【0045】更に、作業者はチップ交換を入力する際、チップ交換設定欄 82c は培地注入チップ設定欄、培地排出チップ設定欄から構成されているため、各チップごとに交換の有無や、交換する場合にはどのように交換するかを入力する。分注パターンを作成する際、分注パターン作成ボタン 82e を選択して図 10 に示す分注パターン作成ウインドウ 88 を開き、分注 ID、分注パターン名及び各分注ポイントにおける分注量を入力する。培地交換の際にどの分注パターンを採用するかは、培地交換データ入力欄 82b でどの分注パターン名を入力するかによって決められる。分注ポイントはここでは培養トレイの縦横各 3 つ、合計 9 つが設定されているが、特にこれに限定されない。

【0046】更にまた、バーコードラベル印字設定につき、入庫登録処理の完了と共に、試料コードに対応したバーコードラベルを図示しないプリンタから印字出力させるか否かをバーコード発行選択欄 82d のラジオボタンによって設定する。なお、別途バーコードラベルの印字ボタンを設け、この印字ボタンを作業者が任意に押すことによってバーコードラベルを印字するようにしてもよい。

【0047】作業者はこれらの入力作業を終えた後、入庫登録処理ボタン 82g を選択する。管理コンピュータ 80 は、入庫登録処理ボタン 82g が選択されたとき、今回入力された試料コードと今回入力された試料に関する情報 (入庫場所、入庫日、培地交換情報、チップ交換情報、分注パターンなど) とを対応づけて記憶装置に記憶し (S120)、ディスプレイの表示を試料管理画面 81 に戻し、その試料管理画面 81 において今回入庫登録処理を行った入庫場所に対応するセルに今回の試料コードを表示し、入庫待ち状態を示す色でこのセルを表示し (S130)、この入庫登録処理を終了する。なお、S110 の後、入庫登録処理ボタン 82g が選択されたときには、今回入力された試料コードのチェックを行い、チェック OK (例えば既に登録済みの試料コードと重複しない) ならば S120 に進み、チェック NG ならばエラーメッセージを画面表示してもよい。

【0048】なお、この入庫登録処理において、試料コードは、前方コードと後方コードとがハイフンで結ばれ

たものを用いているため、前方コードをロット番号とし、後方コードをそのロットのシリアル番号とすれば、スタッカー情報表示部 81a の各セルに表示されている試料コードを見るだけで、その試料のロット番号（試料コードを基に得られる情報）を一目で認識することができる。更に、同一ロットの試料をまとめて入庫する場合には、作業者は、前方コードにロット番号を入力し、まとめて入庫する試料数を入庫数欄（図 8 参照）に入力したあと入庫登録処理ボタン 82g を選択すれば、管理コンピュータ 80 が後方コードにその試料数に応じたシリアル番号を自動的に付与すると共に、それぞれの入庫場所も自動的に割り振る。なお、入力装置のドラッグ操作によりスタッカー情報表示部 81a の複数のセルを選択した後、入庫登録ウインドウ 82 を表示させた場合には、選択したセルの数が入庫数欄に自動的に表示されるようにしてもよい。これにより、同一ロットの試料が複数ある場合であっても、入庫登録を簡単な操作でまとめて行うことができるので、作業者の手間を省くことができる。

【0049】＜入庫処理＞管理コンピュータ 80 は、図 6 の試料管理画面 81 で、作業者が入庫登録処理終了後に入庫ボタン 81d を選択したならば、図 11 に示す入庫処理を開始して、搬送コンベア 30 のベルト駆動モータ 32e を駆動制御してキャリア 31 を培地交換位置 P2 に位置決めすると共に、培養トレイ 90 をキャリア 31 上に載置する旨のメッセージを表示する（S200）。作業者は、このメッセージをみて、今回入庫しようとする培養トレイ 90 を、バーコードラベル 91 がバーコードリーダ 50 に向けた状態で培地交換位置 P2 に位置決めされたキャリア 31 に載せる。すると、培養トレイ 90 は四隅がキャリア 31 の保持部 31a によってしっかりと保持される。

【0050】作業者が培養トレイ 90 を載置後、図示しないメッセージウインドウの確認ボタンを選択するのを待って、管理コンピュータ 80 は、バーコードリーダ 50 を駆動制御してキャリア 31 に保持されている培養トレイ 90 のバーコードラベル 91 を読み取らせる（S210）。そして、そのバーコードから試料コードを読み取り、ディスプレイに図 12 に示す入庫確認ウインドウ 83 を表示する。入庫確認ウインドウ 83 には、今回入庫しようとする培養トレイの試料 ID、試料コード、試料名等が表示されるほか、入庫実行ボタン 83a が表示される。

【0051】作業者は、入庫確認ウインドウ 83 に表示される情報を確認し、入庫試料に問題がなければ、入庫確認ウインドウ 83 の入庫実行ボタン 83a を選択する。管理コンピュータ 80 は、入庫実行ボタン 83a からの命令にしたがって、現在表示中の入庫確認ウインドウ 83 に表示されている試料コードが、入庫登録処理されているか否かを確認する（S220）。なお、入庫登

録処理がされていない試料コードだった場合には、ディスプレイにエラーメッセージを表示してこの処理を終了してもよいが、キャリア 31 に載せられた培養トレイ 90 を入庫するか否かの入力を作業者に促し、入庫する旨が入力されたならば入庫登録ウインドウ 82 をディスプレイに表示し、その後は上述の入庫登録処理を実行してもよい。このときの試料コード欄は、読み取った試料コードを変更不可の状態を表示するのが好ましい。なお、上記の実施形態では入庫確認ウインドウ 83 を表示させ、作業者に確認を促したが、この作業者による確認ステップを省略し、バーコードを読み取った後、直ちに管理コンピュータ 80 による試料コードに基づく入庫登録確認を行ってもよい。

【0052】試料コードが入庫登録処理されていることを確認した後、管理コンピュータ 80 は搬送コンベア 30、ターンテーブル 21、搬送ロボット 23 及び開口部 24 を駆動制御して、培養トレイ 90 をインキュベータ 20 内の所定の入庫場所へ入庫する（S230）。具体的には、搬送コンベア 30 のベルト駆動モータ 32e を駆動制御して、培養トレイ 90 を保持したキャリア 31 を培地交換位置 P2 からトレイ出入位置 P1 まで運ぶ。このとき、培養トレイ 90 への振動を抑えるために、移動開始からキャリア 31 を徐々に加速させ、中間位置から徐々に減速させて停止するようにベルト駆動モータ 32e を制御してもよい。続いて、インキュベータ 20 のコントローラ 25 に指令して、トレイ出入位置 P1 に位置する培養トレイ 90 の下方に搬送ロボット 23 のアーム部 23a を挿入させ、培養トレイ 90 を持ち上げてアーム部 23a に保持させ、培養トレイ 90 を開口部 24 からインキュベータ 20 内へ搬入させ、更に、今回の試料コードに対応する入庫場所を確認し、インキュベータ 20 のコントローラ 25 に指令して、その入庫場所を持つスタッカー 22 が搬送ロボット 23 の前方に位置するようにターンテーブル 21 を回転させると共に、搬送ロボット 23 を駆動制御して培養トレイ 90 を入庫場所へ入庫させる。

【0053】その後、ディスプレイの表示を試料管理画面 81 に戻し（S240）、この入庫処理を終了する。なお、S240 において、試料管理画面 81 に戻す代わりに、管理コンピュータ 80 は、入庫登録処理が行われた培養トレイ（つまり入庫待ちの培養トレイ）で入庫処理が行われていないものが残っているか否かを判断し、残っているならばその旨をディスプレイに表示するか、その入庫確認ウインドウをディスプレイに表示し、残っていなければ入庫処理がすべて行われた旨をディスプレイに表示してもよい。このようにすることで、多くの試料を入庫する必要がある場合であっても、連続して入庫処理を行うことができるので、作業者に負担を掛けることなく、多くの試料を入庫処理することができる。

【0054】＜一時出庫処理＞入庫されている各試料を

定期的（例えば毎日又は所定時間おき）にあるいは随時観察を行う場合、管理コンピュータ80に一時的に培養トレイ90を出庫させる（一時出庫）ために、作業者は試料管理画面81の出庫ボタン81eを選択する。

【0055】管理コンピュータ80は、作業者が試料管理画面81の出庫ボタン81eを選択すると、図13に示す一時出庫処理を開始して、図14に示す出庫ウィンドウ84をディスプレイに表示する（S300）。この出庫ウィンドウ84は、一時出庫処理のほか製品出庫処理を行う場合にも使用されるウィンドウであり、出庫試料一覧表示エリア84a、一時出庫ボタン84b、製品出庫ボタン84c等から構成されている。

【0056】作業者は、一時出庫させる試料コードを出庫試料一覧表示エリア84aに入力してもよいが、出庫ウィンドウ84中にロットサンプル表示ボタンを設け、このボタンを作業者が選択すると管理コンピュータ80が各ロットごとに1つの試料（例えば後方コードが「001」のもの）を自動的に出庫試料一覧表示エリア84aに入力してもよい。管理コンピュータ80は、このように一時出庫させる試料コードが入力されると、これらを出庫試料一覧表示エリア84aに表示する（S310）。

【0057】次いで、管理コンピュータ80は、作業者が一時出庫ボタン84bを選択するのを待って、出庫試料一覧表示エリア84aに表示されている試料コードに対応する入庫場所から、培養トレイ90の取り出し作業を実行する（S320）。即ち、インキュベータ20のコントローラ25に指令して、所定の培養トレイを所定の入庫場所からトレイ出入位置P1まで搬送させ、トレイ出入位置P1に配置されたキャリア31に載せ、搬送コンベア30に指令して、その培養トレイ90を載せたキャリア31を培地交換位置P2へ搬送する。その後、一時出庫した試料コードを出庫試料一覧表示エリア84aから削除する。

【0058】作業者は、培地交換位置P2にて培養トレイ90を降ろし、その培養トレイ90内の試料を、別途設けられている顕微鏡等で観察を行い、先の入庫登録処理で設定した培地交換データを変更すべきか否かを判断する。そして、出庫試料一覧表示エリア84aに一時出庫すべき試料コードが表示されなくなるまで、一時出庫ボタン84bを選択する操作を繰り返し、一時出庫の試料を順に取り出す。管理コンピュータ80は一時出庫ボタン84bが選択されるたびにS320を実行し、一時出庫すべき試料コードがなくなった時点で試料管理画面81をディスプレイに表示し（S330）、この処理を終了する。このとき、試料管理画面81におけるこの入庫場所に対応するセルの色を、一時出庫状態を表す色に変更して表示する。観察終了後、作業者は、一時出庫した培養トレイ90を再び入庫するため、上述した入庫処理を行う。

【0059】＜培地交換スケジュール変更処理＞一時出庫した培養トレイ90の試料を観察した結果、作業者が当日培地予定日のものであっても成長が不十分のため培地交換不要と判断したもの、あるいは当日培地交換予定日ではなかったが成長が速いため培地交換を要すると判断したものについては、培地交換スケジュール変更処理によって、培地交換のスケジュール管理を行う。

【0060】管理コンピュータ80は、作業者が培地交換スケジュール画面をディスプレイに表示するように指示したならば、図15に示す培地交換スケジュール処理を開始して、図16に示す培地交換スケジュール画面85をディスプレイに表示する（S400）。この培地交換スケジュール画面85は、スタッカー情報表示部85aと、ステータス表示部85bと、培地交換ボタン85cと、培地不交換ボタン85dと、試料データ表示部85fとから構成されている。スタッカー情報表示部85a、ステータス表示部85b及び試料データ表示部85fは、試料管理画面81の同名の表示部81a、81b、81fと同様の情報が表示されるため、ここではその説明を省略する。但し、スタッカー情報表示部85aの各セルは、培地交換の有無、経過、予定日等に基づく情報に基づいて色分けされている。例えば、本日培地交換を予定している試料は青色、培地交換予定日を経過している試料は赤色、培地交換予定日が明日以降の試料は緑色、交換予定日だが入庫されていない試料は紫色、といった具合である。ステータス表示部85bは、これらに対応したステータス内容が表示される。なお、色分けの代わりに模様で分けてもよい。

【0061】作業者は、本日交換予定でない試料につき培地交換が必要な場合には、スタッカー情報表示部85aのその試料に対応するセルを選択し、培地交換ボタン85cを選択する一方、本日交換予定の試料につき培地交換が不要な場合には、スタッカー情報表示部85aのその試料に対応するセルを選択し、培地不交換ボタン85dを選択する。

【0062】管理コンピュータ80は、いずれかのボタン85c、85dが選択されると、図17に示す培地交換変更ウィンドウ86をディスプレイに表示する（S410）。この培地交換変更ウィンドウ86は、今回培地交換スケジュールを変更しようとする培養トレイの試料ID、試料コード、試料名等が表示されるほか、培地交換欄86a、設定反映欄86b、終了ボタン86c等から構成されており、培地交換ボタン85cが選択された場合には培地交換欄86aにおける「今日培地交換を行う」にチェックを入れた状態で表示し、培地不交換ボタン85dが選択された場合には同欄86aにおける「今日培地交換を行わない」にチェックを入れた状態で表示する。設定反映欄86bには、培地交換スケジュールの変更につき、「この試料だけに反映」か「ロット全体に反映」かのいずれかにチェックを入力できる欄が設けら

れ、作業者の選択を待っていずれかにチェックを入れた状態で表示する(S420)。

【0063】そして、培地交換変更ウインドウ86の終了ボタン86cが選択されるのを待って、その変更内容に基づいて反映させる(S430)。具体的には、管理コンピュータ80は、培地交換スケジュールが変更された試料について、培地交換間隔が長期化されたもの(つまり培地交換が予定日より遅く行われたもの)は、その培地交換間隔はそのときだけのものとし、以後の培地交換間隔は当初の設定のままとする。これは、一時的に細胞の成長が遅れただけでその後は予定通りの速度で成長することがあり得るが、その場合に培地交換間隔を伸ばしたのでは十分な栄養を与えられず、好ましくないからである。一方、培地交換間隔が短縮化されたもの(つまり培地交換が予定日より早く行われたもの)は、その培地交換間隔はそれ以後の培地交換間隔にも反映させるものとする。これは、その後も予想以上に速く細胞が成長していくことがあり得るが、その場合に今まで通りの培地交換間隔で培地交換を行ったのでは十分な栄養を与えられず、好ましくないからである。

【0064】その後、管理コンピュータ80は、培地交換スケジュール画面85をディスプレイに表示する(S440)。このとき、培地交換スケジュール画面85におけるセルの色を、変更後の培地交換スケジュールに対応した色に変更して表示する。

【0065】ここで、培地交換スケジュールの変更内容の反映について、図18に基づいて説明する。入庫登録処理時の設定が、初回：間隔3日で繰り返す回数2回、2回目：間隔2日で繰り返す回数2回、3回目：間隔1日、出庫予定日を17日後とした基本の培地交換スケジュールに対して、培地交換スケジュールを変更した変更例1～3について説明する。図18中、黒塗り菱形は培地交換時期を示し、黒塗り星形は培地交換の変更を行った時期を示し、数字は培地交換間隔を示し、○内の数字及び点線は培地交換の変更(黒塗り星形)により培地交換間隔に変更が生じた期間を示している。

【0066】変更例1は、初回間隔3日に対してそれよりも短い間隔2日で培地交換を行った場合である。この場合、初回繰り返し時の交換間隔も3日から2日へと短く設定される。2回目間隔は変更した交換間隔と同じなので、基本スケジュール間隔で行われ、3回目間隔で出庫予定日まで培地交換が繰り返される。なお、この変更例1では基本スケジュールに比べて細胞成長が速いため、観察結果に照らしながら、当初の出庫予定日を早めてもよく、そのような設定変更を行うようにしてもよい。また、培地交換回数を基に出庫予定日を自動的に設定するようにしてもよい。例えば、培地交換回数を基本の培地スケジュールと同じ11回と設定した場合には、変更例1では培養15日目が出庫予定日となる。

【0067】変更例2は、初回間隔3日及び2回目間隔

2日に対してそれよりも短い間隔1日で培地交換を行った場合である。この場合、初回繰り返し時の交換間隔及び2回目繰り返し時の交換間隔も1日に設定される。3回目間隔は変更した交換間隔と同じなので、基本スケジュール間隔の状態の出庫予定日まで培地交換が繰り返される。なお、この変更例2でも基本スケジュールに比べて細胞成長が速いため、観察結果に照らしながら、当初の出庫予定日を早めてもよく、そのような設定変更を行うようにしてもよい。また、培地交換回数を基に出庫予定日を自動的に設定するようにしてもよい。例えば、培地交換回数を基本の培地スケジュールと同じ11回と設定した場合には、変更例2では培養11日目が出庫予定日となる。

【0068】変更例3は、初回間隔3日に対してそれよりも長い間隔4日で培地交換を行った場合である。この場合、交換間隔は変更を行ったときの培地交換のみに反映され、初回繰り返し時の交換間隔及び2回目、3回目の繰り返し時の交換間隔には反映されずに基本スケジュール間隔の状態の出庫予定日まで培地交換が繰り返される。なお、この変更例3では、基本スケジュールに比べて細胞成長が遅いため、当初の出庫予定日を遅らせてもよく、そのような設定変更を行うようにしてもよい。また、培地交換回数を基に出庫予定日を自動的に設定するようにしてもよい。例えば、培地交換回数を基本の培地スケジュールと同じ11回と設定した場合には、変更例3では培養18日目が出庫予定日となる。

【0069】このように観察結果に基づいて作業者がその培地交換スケジュールに反して培地交換を行ったり行わなかったりした場合、それに伴って自動的に培地交換スケジュールを適切に変更するため、細胞培養を安定に管理することができる。

【0070】<培地交換処理>管理コンピュータ80は、作業者が培地交換運転画面をディスプレイに表示するように指示したならば、図19の培地交換処理を開始して、図20に示す培地交換運転画面87をディスプレイに表示する(S500)。この培地交換運転画面87は、メッセージ表示エリア87a、培地交換予定試料一覧表示エリア87b、使用品目表示エリア87c、チップブラック交換ボタン87d、運転ボタン87e、停止ボタン87f、シーケンス表示エリア87gから構成されている。この培地交換運転画面87を表示する際、管理コンピュータ80は、当日培地交換予定の試料を培地交換予定試料一覧表示エリア87bに一覧表示し、培地交換予定試料一覧表示エリア87bに表示された試料の培地交換作業に必要な培地の総量(培地使用予定量)やチップの数量等を使用品目表示エリア87cに表示する。

【0071】作業者は、使用品目表示エリア87cに表示される培地使用予定量等の情報を基に培地ボトル45やチップブラック49のセッティングなど、培地交換に必要な準備を行う。例えば、チップブラック49のセッティ

ングを行う場合には、培地交換運転画面87のチップラック交換ボタン87dを選択する。すると、図示しないチップラック交換ウインドウが表示され、このウインドウにてチップラック49に保管されたどの滅菌チップを使用するか、あるいはどの滅菌チップから使用を開始し、どのような順番で使用するか、を指定できる。そして、作業者は、培地交換に必要な準備が終了した時点で、運転ボタン87eを選択する。

【0072】管理コンピュータ80は、運転ボタン87eが選択されると、各機器に制御信号を出力して所定の入庫場所の培養トレイ90を培地交換位置P2まで搬送させる(S510)。即ち、管理コンピュータ80は、培地交換予定試料一覧表示エリア87bに表示された試料コードに対応する入庫場所に入庫されている培養トレイ90をインキュベータ20の中から外へ取り出すように、インキュベータ20のコントローラ25へ出力する。すると、コントローラ25は、ターンテーブル21及び搬送ロボット23を駆動制御して、アーム部23aにこの入庫場所に入庫されている培養トレイ90を取り出させ、開口部24を開いてトレイ出入位置P1に待機しているキャリア31上にその培養トレイ90を載せる。次いで、管理コンピュータ80は、搬送コンベア30のベルト駆動モータ32eを駆動制御して、培養トレイ90を保持しているキャリア31をトレイ出入位置P1から培地交換位置P2まで移動させ、更に、リッドオープンロボット60を駆動制御して、培地交換位置P2に位置決めされた培養トレイ90のリッド92の上方に吸着ヘッド61を運んだあと、その吸着ヘッド61がリッド92と接触するまで下降させ、吸着ヘッド61の内部を減圧化してリッド92を吸着させ、その状態で上昇させ、培地交換作業の邪魔にならない所定の退避位置に退避させる。

【0073】次いで、管理コンピュータ80は、チップ交換の設定の有無を判断し(S520)、設定されていればS530を実行後にS540へ進み、設定されていなければS540へ進む。S530では、培地交換ロボット40を駆動制御して、ニードル保持部43をチップ除去部48の上方に移動させ、チップ交換が設定されているニードルを降下後上昇させることにより滅菌チップをチップ除去部48にて取り外し、その後ニードル保持部43をチップラック49の上方に移動させ、先ほどのニードルを降下させて新たな滅菌チップをはめ込み、その後上昇させる。

【0074】S540では、培養トレイ90内の培地の排出を行う。即ち、搬送コンベア30の傾動モータ33cを駆動制御して、キャリア31を所定の傾斜角度に傾けることにより、キャリア31に保持されている培養トレイ90内の培地を一方向に溜める。そして、培地交換ロボット40を駆動制御して、ニードル保持部43を培地交換位置P2の上方に移動させ、傾斜状態の培養トレ

イ90の底部(培地がたまっている部分)に培地排出ニードル42を下降させてその培地排出チップ42aを培地に漬け、排出ポンプ46の回転駆動により培地を吸引して廃液ボトル47へ棄てる。なお、培養トレイの傾斜角度は一定でもよいが、培養トレイ90内の培地残存量に応じて徐々に傾斜角度が大きくなるように制御してもよい。なお、培地残存量は、例えば培養トレイ90の重量を検出可能な重量センサを設けてその重量センサからの信号に基づいて算出したり、廃液ボトル47に容量センサを設けて当初培養トレイ90に注入した培地容量と廃液ボトル47に排出された排出容量との差として算出したりしてもよい。

【0075】次いで、管理コンピュータ80は、新たな培地の注入を行う(S550)。即ち、培地排出ニードル42を上昇させ、傾動モータ33cを駆動制御して培養トレイ90を保持しているキャリア31を水平に戻し、培地注入ニードル41を培養トレイ90内へ培地を注入可能な位置まで下降させ、入庫登録処理において設定された分注パターンにしたがって、培地交換ロボット40を駆動制御して各分注ポイントに培地注入ニードル41を移動させ、注入ポンプ44を回転駆動させて設定された分注量の培地を注入する。その後、培地注入ニードル41を上昇させ、ニードル保持部43を培地交換位置P2の上方から所定の退避場所へ退避させ、リッドオープンロボット60を駆動制御して、リッド92を吸着している吸着ヘッド61をこの培養トレイ90の上方へ移動させ、続いて吸着ヘッド61を下降させてリッド92を培養トレイ90に被せ、その後吸着ヘッド61と真空ポンプとの接続を解除し、吸着ヘッド61の内部を常圧に戻してリッド92を離し、その後吸着ヘッド61を上昇させる。

【0076】次いで、管理コンピュータ80は、培地交換終了後の培養トレイ90を再入庫させる(S560)。即ち、バーコードリーダ50にバーコードラベル91を読み取らせ、そのバーコードから試料コードを読み出し、試料コードに対応づけられている入庫場所を読み出し、搬送コンベア30のベルト駆動モータ32eを駆動制御して、培養トレイ90をトレイ出入位置P1まで移動させ、インキュベータ20内のコントローラ25に搬送ロボット23等を駆動制御してその培養トレイ90を所定の入庫場所へ入庫させる。

【0077】そして、培地交換予定試料一覧表示エリア87bに表示されている試料のすべてに対して培地交換を行ったか否かを判断し(S570)、未だ培地交換していない試料が残っているならば、その試料につきS510～S560の処理を繰り返し、エリア87bに表示されている試料のすべてに対して培地交換を行ったならば、この培地交換処理を終了する。

【0078】なお、上述の培地交換作業中は実行中の各作業がシーケンス表示エリア87gに表示されると共

に、各機構の駆動状態がメッセージ表示エリア87aに表示されるので、作業者は一見して培地交換の作業状態を認識することができる。また、作業実行中にて停止ボタン87fを押すことによって、作業を一時中断することが可能であり、例えば途中でチップラック49を交換したりするようなときに利用できる。

【0079】<製品出庫処理>作業者は、出庫予定日に達した培養トレイ90を製品として出庫させる（製品出庫）ために、作業者は試料管理画面81の出庫ボタン81eを選択する。管理コンピュータ80は、作業者が試料管理画面81の出庫ボタン81eを選択すると、図21に示す製品出庫処理を開始して、一時出庫のときと同様の出庫ウインドウ84（図14参照）をディスプレイに表示する（S600）。

【0080】作業者は、製品として出庫させる試料コードを出庫試料一覧表示エリア84aに入力してもよいが、出庫ウインドウ84中に製品出庫予定試料表示ボタンを設け、このボタンを作業者が選択すると管理コンピュータ80がその日を出庫予定日とする試料を自動的に抽出して出庫試料一覧表示エリア84aに入力してもよい。管理コンピュータ80は、このように製品出庫させる試料コードが入力されると、これらを出庫試料一覧表示エリア84aに表示する（S610）。

【0081】次いで、管理コンピュータ80は、作業者が製品出庫ボタン84cを選択するのを待って、出庫試料一覧表示エリア84aに表示されている試料コードに対応する入庫場所から、培養トレイ90を取り出させる（S620）。その後、製品出庫した試料コードを出庫試料一覧表示エリア84aから削除する。

【0082】作業者は、培地交換位置P2にて培養トレイ90を降ろし、製品検査等の所定の作業を行う。そして、出庫試料一覧表示エリア84aに製品出庫すべき試料コードが表示されなくなるまで、製品出庫ボタン84cを選択する操作を繰り返す。管理コンピュータ80は製品出庫ボタン84cが選択されるたびにS620を実行し、製品出庫すべき試料コードがなくなった時点で試料管理画面81をディスプレイに表示し（S630）、この処理を終了する。このとき、試料管理画面81におけるこの入庫場所に対応するセルの色を、空の状態を表す色に変更して表示する。

【0083】<レポート出力処理>作業者は、製品出庫後や培養途中に、管理コンピュータ80により、培養記録として上記工程中の培養操作の履歴を出力することができる。即ち、作業者が管理コンピュータ80にレポート出力を指令すると、管理コンピュータ80は所定の形式（又は作業者が選択した任意の形式）で培養操作の履歴をディスプレイに表示したり、図示しないプリンタによって印字出力したり、保存操作により管理コンピュータ80の記憶装置や他の記録媒体に記録したりする。培養操作の履歴とは、培養環境履歴、操作履歴等のデータ

履歴である。このうち、培養環境履歴は、インキュベータ20内の状態のデータ履歴であり、所定時間ごとに記録されたCO<sub>2</sub>濃度、温度、湿度等のデータである。また、操作履歴は、入庫から製品出庫までの一連の培養操作履歴であり、操作日時、作業者、作業内容、試料名等が時系列で記録されたデータである。上述のようなデータ履歴は、一定時間ごと又は培養操作ごとに管理コンピュータ80の記憶装置に自動的に記録される。このため、作業者はデータ履歴を自ら記録する手間がかからず、記録忘れ等を防ぐことができる。このように培養操作の履歴を管理コンピュータ80が管理するため、安全かつ容易に培養操作を管理することができる。

【0084】ここで、本実施形態の構成要素と本発明の構成要素の対応関係を明らかにする。本実施形態のインキュベータ20内のターンテーブル21、搬送ロボット23及び開口部24並びに搬送コンベア30が本発明の容器出入手段に相当し、培地交換ロボット40及び培地排出ニードル42が培地排出手段に相当し、培地交換ロボット40及び培地注入ニードル41が培地注入手段に相当し、管理コンピュータ80が制御手段に相当し、キャリア31及び揺動機構33が容器支持手段に相当する。

【0085】以上詳述した本実施形態によれば、ロボット（搬送ロボット23や培地交換ロボット40やリッドオープンロボット60のみならず、ターンテーブル21や開口部24や各種モータ32e、33cやポンプ44、46等も含む）を管理コンピュータ80が制御することにより、培養容器である培養トレイ90内の培地を自動的に交換するため、作業者の負担が軽くなり、培地交換作業に熟練していない者であっても操作できるため作業者の教育・育成等に必要だった時間やコストなどの負担がかからず、人為的ミスやコンタミネーション等の可能性がほとんどないという効果が得られる。本実施形態ではリッド92の取り外しも自動化したため、コンタミネーションをより確実に防止できる。

【0086】また、培養トレイ90内の培地を排出する際、培養トレイ90が傾斜することにより一方向に溜められるので培地を排出しやすく、培地を注入する際、培養トレイ90を水平に戻してから新たな培地を注入するため水平に戻しながら注入する場合に比べて制御が簡易になる。

【0087】更に、培地注入ニードル41のチップ41aや培地排出ニードル42のチップ42aを自動交換可能としたため、これらチップ41a、42aを介してコンタミネーションが生じるおそれを有効に回避できる。

【0088】更にまた、培地を複数の分注ポイントにて注入しているため、培養トレイ90内の接着依存性細胞の形態が液体培地の圧力を受け続けることによって変形するおそれも有効に回避できる。このとき、各分注ポイントごとに異なる注入量に設定できるため、きめの細か

い注入パターンを選ぶことができる。

【0089】そしてまた、管理コンピュータ80は、培養トレイ90のバーコードラベル91から識別記号である試料コードを読み取り、その試料コードに対応づけて記憶装置に記憶された培地注入に関する情報（例えば分注パターン）に基づいて、培地を注入しているため、誤った培地注入が行われるおそれが有効に回避される。

【0090】なお、本発明は上述した実施形態に何ら限定されることはなく、特許請求の範囲に属する限り、種々の態様で実施し得ることはいうまでもない。例えば、リッド92は培養トレイ90と分離できるものを用いたが、培養トレイ90にスライド式として一体的に設けられていてもよい。

【0091】また、培地注入ニードル41、注入ポンプ44及び培地ボトル45を複数組設け、各培地ボトル45に異なる種類の培地を入れておき、各試料ごとに培地の種類を選択して培養トレイ90内へその培地を注入するように制御してもよい。これにより、例えば同一試料に対して培養状態に応じた適切な培地を選択して供給することが可能になり、あるいは、種類の異なる細胞に対応した培地を切り替えて供給することも可能になる。

【0092】更に、新たに供給する培地の供給量を的確に把握する必要がある場合には、予め培地ボトル45と培地注入ニードル41との間に存在している空気を排出しておくことが好ましい。例えば、培地交換ロボット40によりニードル保持部43を培地排出口D（図1参照）の上方に位置決めし、注入ポンプ44を回転駆動させて培地ボトル45から培地を吸い上げれば、培地と共に空気が培地注入ニードル41から培地排出口Dへ排出される。この空気排出作業は、例えば、システム立ち上げ時や作業開始時等に行うことが好ましい。

【0093】更にまた、図12の入庫確認ウインドウ83に培地交換欄（今日培地交換を行うか行わないかを設定する欄）や設定反映欄（培地交換欄での設定をこの試料だけに反映させるかロット全体に反映させるかを決定する欄）を設けてもよく、この場合、一時出庫後の入庫の際に、培地交換スケジュールを変更する必要がある場合にはこの培地交換欄や設定反映欄を利用することにより、培地交換スケジュール変更処理を実行することなく、培地交換スケジュールを変更することができる。

【0094】そしてまた、上記実施の形態では作業者の観察結果に基づいて培地交換スケジュールを変更するかどうかを決めたが、この観察作業を自動化してもよい。例えば、培養トレイ90内の様子をCCD等で画像として認識し、その画像に基づいて培地交換スケジュールを変

更するか否かを管理コンピュータ80が判断してもよい。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本実施形態の自動培地交換装置の外観概略図である。

【図2】 本実施形態の搬送コンベアの概略説明図である。

【図3】 本実施形態のニードル保持部の概略説明図である。

【図4】 本実施形態の電気的接続を表す概略ブロック図である。

【図5】 本実施形態の自動培地交換装置を使用するにあたっての作業手順を表す説明図である。

【図6】 試料管理画面の説明図である。

【図7】 入庫登録処理のフローチャートである。

【図8】 入庫登録ウインドウの説明図である。

【図9】 培地交換間隔の一例を示す説明図である。

【図10】 分注パターン作成ウインドウの説明図である。

【図11】 入庫処理のフローチャートである。

【図12】 入庫確認ウインドウの説明図である。

【図13】 一時出庫処理のフローチャートである。

【図14】 出庫ウインドウの説明図である。

【図15】 培地交換スケジュール変更処理のフローチャートである。

【図16】 培地交換スケジュール画面の説明図である。

【図17】 培地交換変更ウインドウの説明図である。

【図18】 培地交換間隔の説明図である。

【図19】 培地交換処理のフローチャートである。

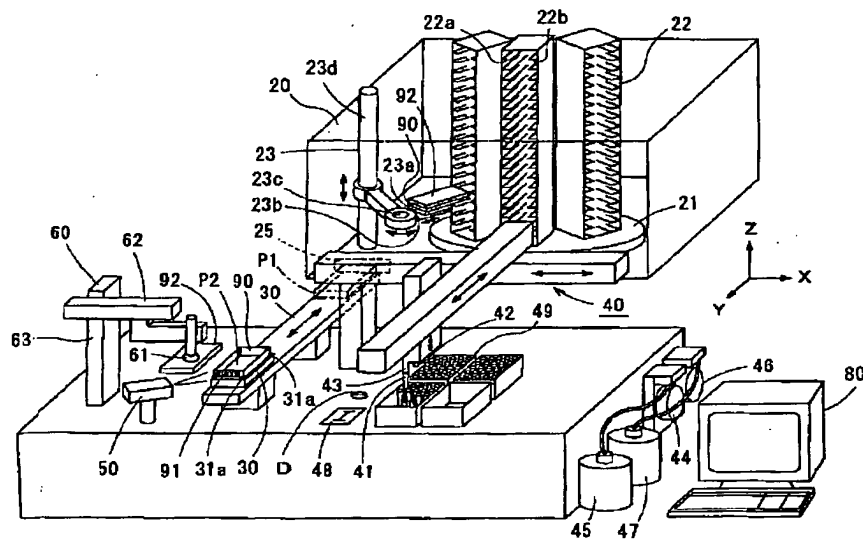
【図20】 培地交換運転画面の説明図である。

【図21】 製品出庫処理のフローチャートである。

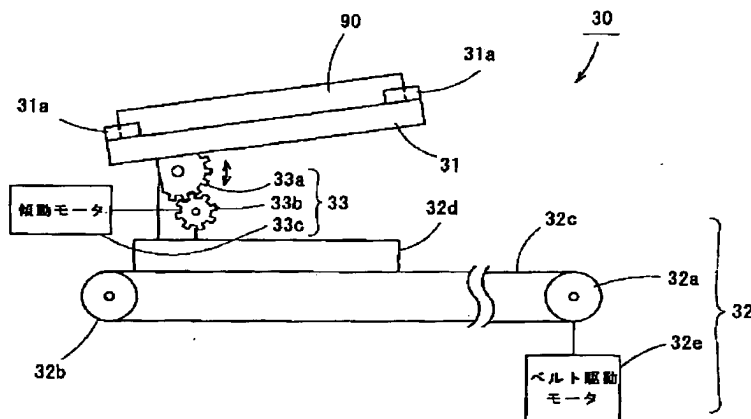
【符号の説明】

10…自動培地交換装置、20…インキュベータ、21…ターンテーブル、22…スタッカー、23…搬送ロボット、24…開口部、25…コントローラ、30…搬送コンベア、31…キャリア、32…水平移動機構、33…揺動機構、40…培地交換ロボット、41…培地注入ニードル、42…培地排出ニードル、43…ニードル保持部、44…注入ポンプ、45…培地ボトル、46…排出ポンプ、47…廃液ボトル、50…バーコードリーダー、60…リッドオープンロボット、80…管理コンピュータ、90…培養トレイ、91…バーコードラベル、92…リッド。

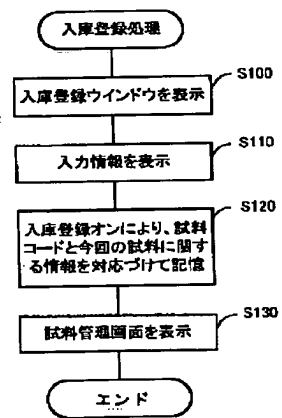
【圖 1】



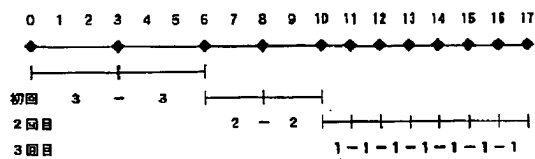
【圖2】



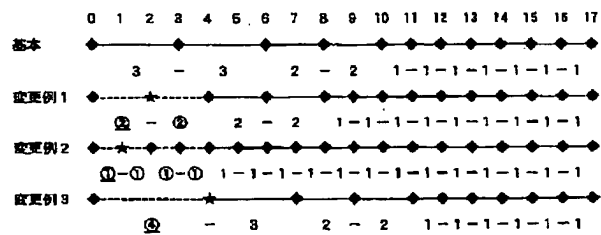
【圖 7】



【圖9】

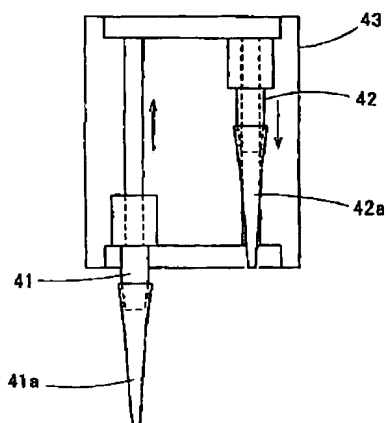


·【圖 18】

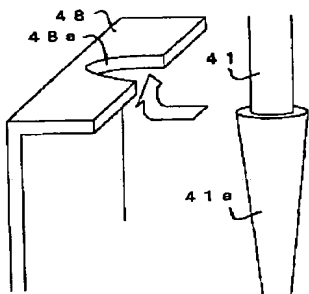


【図3】

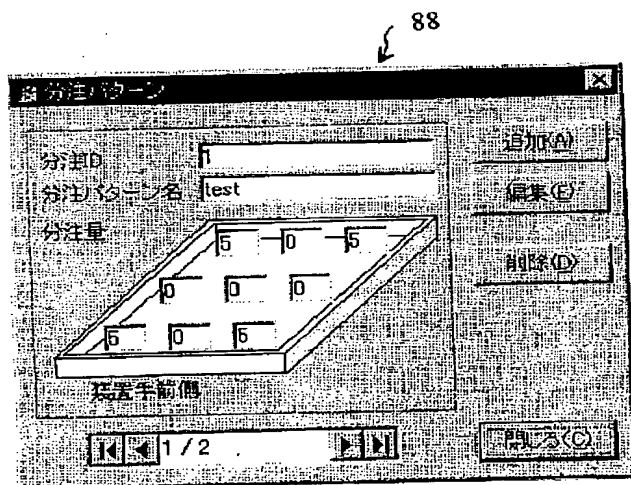
(a)



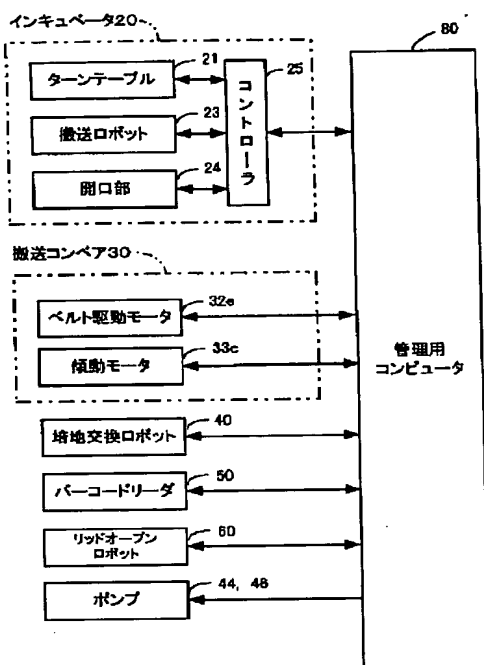
(b)



【図10】

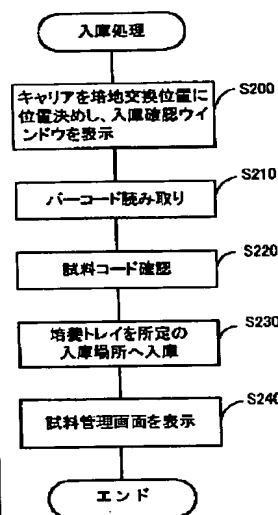


【図4】

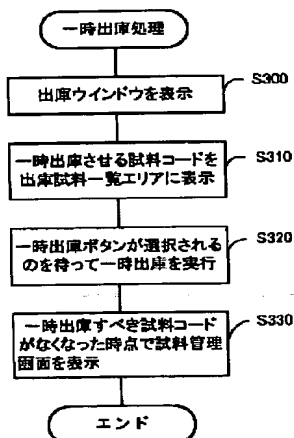


自動培地交換装置10

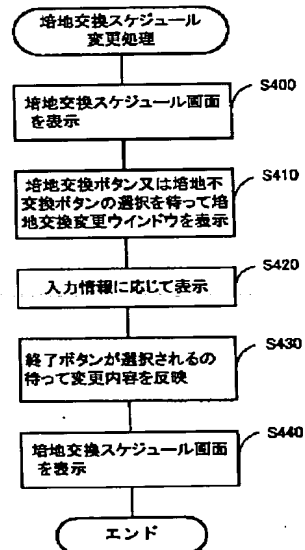
【図11】



【図13】



【図15】



18

入庫

出庫

入庫

出庫

81a

81b

81c

81d

81e

81f

81g

81h

81i

81j

81k

81l

81m

81n

81o

81p

81q

81r

81s

81t

81u

81v

81w

81x

81y

81z

81a

81b

81c

81d

81e

81f

81g

81h

81i

81j

81k

81l

81m

81n

81o

81p

81q

81r

81s

81t

81u

81v

81w

81x

81y

81z

【図8】

82

82a

82b

82c

82d

82e

82f

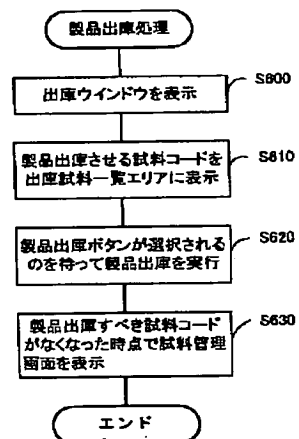
82g

【図12】

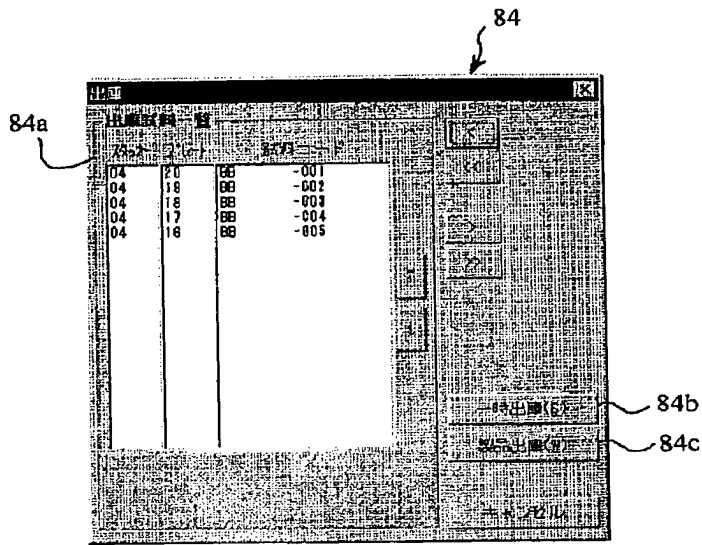
83

83a

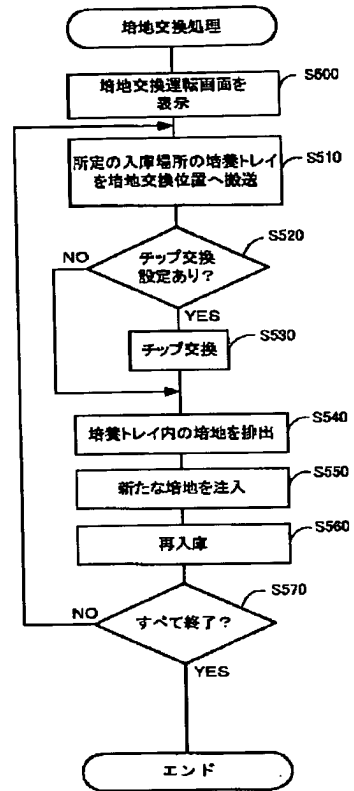
【図21】



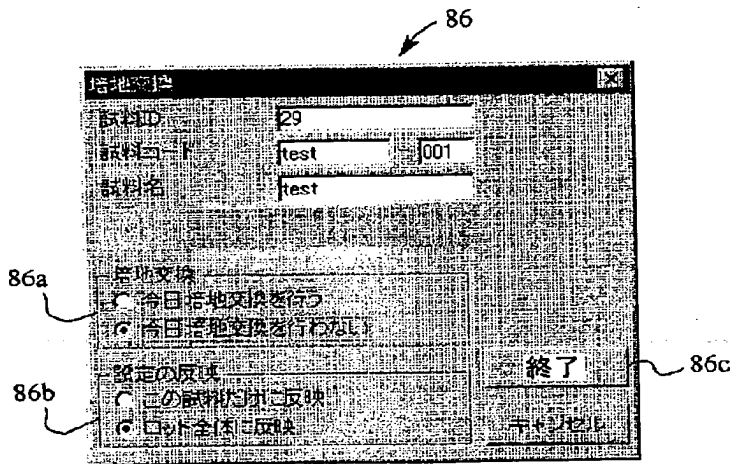
【図14】



【図19】



【図17】



85

85a

85b

85c

85d

85e

85f

85g

85h

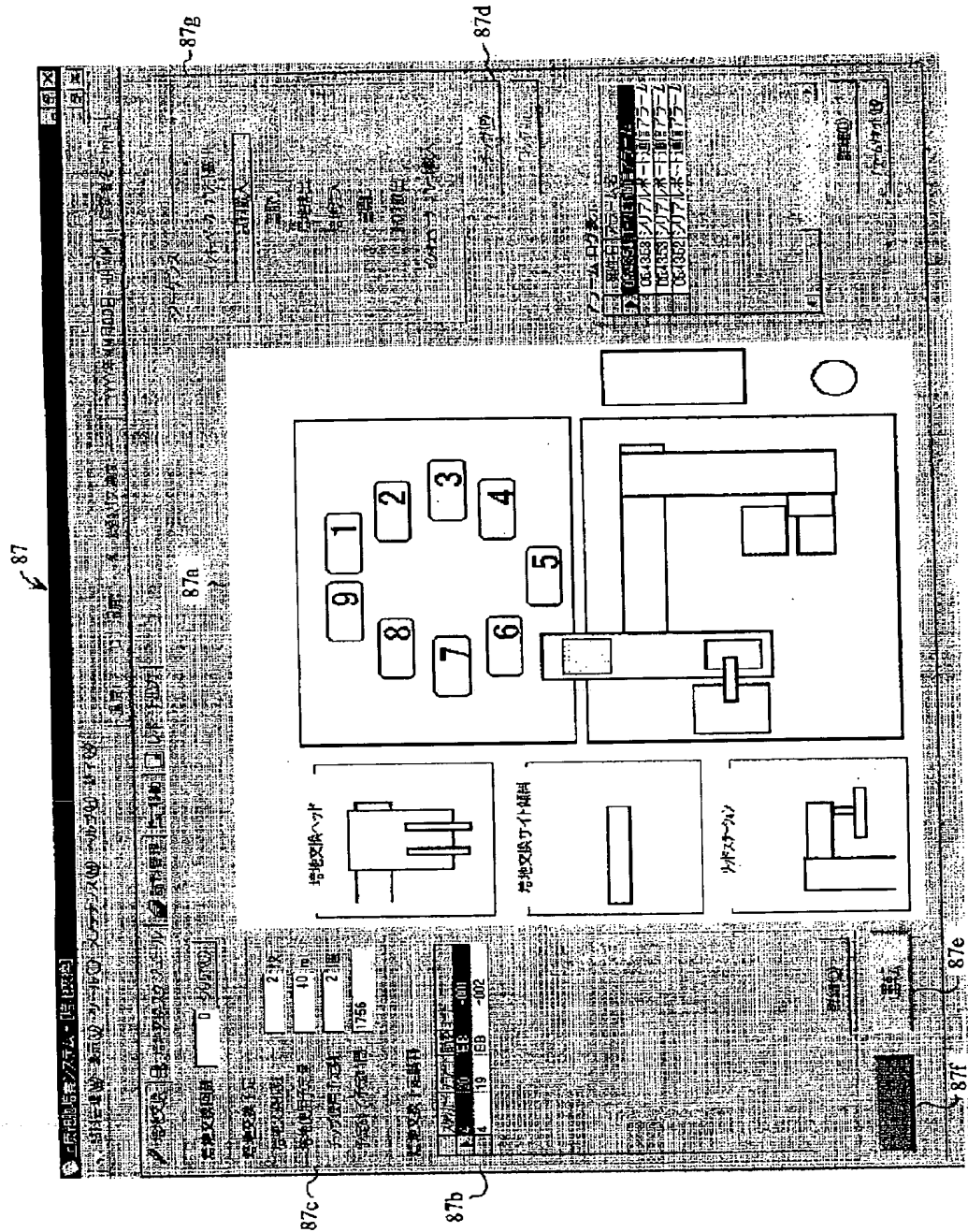
85i

85j

85k

85l

【図20】



フロントページの続き

(72)発明者 堀田 仁志  
愛知県蒲郡市三谷北通 6 丁目 209 番地の 1  
株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジ  
ニアリング内

(72)発明者 石川 陽一  
東京都西東京市中町 1 - 11 - 26  
F ターム(参考) 4B029 AA02 AA09 BB11 CC02 CC08  
DF05 DG06 HA07 HA09 HA10  
4B065 AA90X AC20 BC01 BC16  
BC17 CA44 CA46

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant:

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**